Journal of Horticultural Science
https://jhs.um.ac.ir

Research Article
Vol. 38, No. 2, Summer 2024, p. 303-319

The Effect of Phosphate-Solubilizing Bacteria in Availability of Phosphorus from Rock Phosphate and Improving Pistachio (*Pistacia vera* L.) Seedlings Growth at Different Levels of Irrigation Water Salinity

F. Azarmi-Atajan[1*], M.H. Sayyari-Zahan[2*], A. Mirzaei[3]

1 and 2- Assistant Professor and Associate Professor, Department of Soil Science and Engineering, Faculty of Agriculture, University of Birjand, Birjand, Iran, respectively.
(*- Corresponding Author Email: farhadazarmi@birjand.ac.ir)
3- Graduated M.Sc. Student, Department of Plant Production and Genetic Engineering, Faculty of Agriculture, University of Birjand, Birjand, Iran

Received: 22-09-2022 Revised: 23-05-2023 Accepted: 22-10-2023 Available Online: 23-10-2023	**How to cite this article:** Azarmi-Atajan, F., Sayyari-Zahan, M.H., & Mirzaei, A. (2024). The effect of phosphate-solubilizing bacteria in availability of phosphorus from rock phosphate and improving pistachio (*Pistacia vera* L.) seedlings growth at different levels of irrigation water salinity. *Journal of Horticultural Science, 38*(2), 303-319. (In Persian with English abstract). https://doi.org/10.22067/jhs.2023.78915.1194

Introduction

Phosphorus (P) is one of the most important nutritional elements of plants and it is necessary for the development of plant roots. Due to the high cost of chemical fertilizers, it is important to use cheap sources such as rock phosphate (RP) to supply P needed by plants. The efficiency of RP is low and its use alone cannot supply the P required by the plant. One of the ways to increase the efficiency of RP is to use phosphate solubilizing bacteria (PSB). Considering the salinity of soil and irrigation water in many pistachio-growing areas of Iran, the use of salt-resistant PSB can increase their resistance to salt stress in addition to supplying the P required by pistachios.

Materials and Methods

In order to investigate the role of PSB in supplying the required P of pistachio seedlings under saline conditions, a factorial experiment was conducted in the form of a completely randomized design with 3 replications in greenhouse conditions. The factors included PSB at three levels [control (PSB_0), *Pseudomonas* sp. *1* (PSB_1) and *Pseudomonas* sp. *2* (PSB_2)], RP at two levels (0 and 30 mg P from rock RP) and irrigation water salinity at three levels (0, 5 and 10 dS/m). The bacteria used in this study were able to produce ACC-deaminase, indole acetic acid and dissolve tricalcium phosphate in vitro. For inoculation, inoculum containing each bacterium with a population of 10^8 cells/ml was prepared in the nutrient broth medium and each pistachio seed (*P. vera* L. cv. Badami) was inoculated with 500 µL of bacterial inoculum. The plants were irrigated with non-saline water for four weeks and then with saline water until harvesting based on experimental treatments. During the growth period, the soil moisture of the pots was kept at about 80% of the field capacity by weight method. Finally, shoot and root sampling was performed and various characteristics such as shoot and root dry weight, chlorophyll, carotenoids, proline, soluble sugars, RWC, MSI and phosphorus as well as sodium concentrations were measured. Analysis of variance of traits was performed using SAS software and the means were compared using the LSD method with a probability level of $P \leq 0.05$.

Results and Discussion

The results showed that water salinity decreased the dry weight of shoot and root, chlorophyll a, chlorophyll b, carotenoids, relative water content (RWC) and membrane stability index (MSI) of leaf and p concentration of shoot

https://doi.org/10.22067/jhs.2023.78915.1194

and root of pistachio seedlings. Auxin produced by bacteria can directly increase cell division and growth or indirectly increase ACC-deaminase production. On the other hand, proline, soluble sugars and sodium were accumulated in the leaves of seedlings with increasing water salinity. According to the results, although the use of RP alone did not show significant effect on the studied indicators, its simultaneous use with PSB had the greatest role in improving the growth of pistachio seedlings, especially in saline conditions. The highest amount of dry weight of shoot (1.89 g.plant) and root (1.59 g.plant), chlorophyll b (1.30 mg/g fresh weight), carotenoids (1.35 mg/g fresh weight), soluble sugars (59.1 mg/g fresh weight), proline (36.7 $mg.g^{-1}$ fresh weight), leaf RWC (91 %), leaf MSI (84%) and the P concentration of shoot (0.39 %) and root (0.35 %) was obtained from the simultaneous application of RP and PSB (especially PSB_2) in non-saline conditions. The PSB increase soil P availability by reducing of soil pH by release of protons and organic acids and mineralization by production of acid phosphatases. Bacteria, in addition to increasing soil P availability, improve phosphorus uptake and chlorophyll content in plants by affecting root morphology and its development in soil. On the other hand, inoculation with PSB (both separately and together with rock phosphate) reduced sodium accumulation in the aerial parts and roots of pistachio seedlings.

Conclusion

Unlike pistachio trees, the tolerance of pistachio seedlings to salt stress is low. According to the results, the salinity symptoms were visible in the pistachio seedling leaves at the water salinity level of 10 dS/m, which caused the drying of the lower leaves and the burning of the edges of the young leaves. On the other hand, although the application of RP alone did not have significant effect on increasing the tolerance of plants to salt stress, the simultaneous use of RP with PSB increased growth, the accumulation of proline and soluble sugars, the concentration of chlorophyll and carotenoids, the amount of RWC and MSI and P concentration of pistachio seedlings, especially in saline conditions. Therefore, the use of PSB can help the growth and establishment of pistachio seedlings under salinity stress conditions and increase the efficiency of RP and supply P needed by the seedlings.

Keywords: PGPR, Phosphorus resources, Salinity stress, Water absorption

نشریه علوم باغبانی
https://jhs.um.ac.ir

مقاله پژوهشی
جلد ۳۸، شماره ۲، تابستان ۱٤۰۳، ص. ۳۱۹-۳۰۳

تأثیر باکتری‌های حل‌کننده فسفات در تأمین فسفر از سنگ فسفات و بهبود رشد دانهال‌های پسته (*Pistacia vera* L.) در سطوح مختلف شوری آب آبیاری

فرهاد آذرمی آتاجان[۱*]- محمدحسن سیاری زهان[۲]- عبدالله میرزایی[۳]

تاریخ دریافت: ۱۴۰۱/۰۶/۳۱
تاریخ پذیرش: ۱۴۰۲/۰۷/۳۰

چکیده

استفاده از باکتری‌های حل‌کننده فسفات (PSB) متحمل به شوری از روش‌های مؤثر در افزایش کارایی سنگ فسفات، تأمین فسفر مورد نیاز گیاه و بهبود رشد آن در محیط‌های شور می‌باشد. به‌منظور بررسی نقش PSB در تأمین فسفر مورد نیاز دانهال‌های پسته در شرایط شور، آزمایشی به‌صورت فاکتوریل در قالب طرح کامل تصادفی با سه تکرار در شرایط گلخانه‌ای انجام شد. فاکتورهای آزمایشی شامل PSB در سه سطح [شاهد (PSB_0)، باکتری *Pseudomonas sp.* 1 (PSB_1) و باکتری *Pseudomonas sp.* 2 (PSB_2)]، سنگ فسفات در دو سطح (صفر و ۳۰ میلی‌گرم فسفر از منبع سنگ فسفات) و شوری آب آبیاری در سه سطح (صفر، ۵ و ۱۰ دسی زیمنس بر متر) بود. نتایج نشان داد که شوری آب موجب کاهش وزن خشک اندام هوایی و ریشه، کلروفیل، کاروتنوئیدها، مقدار نسبی آب و شاخص پایداری غشای برگ و غلظت فسفر اندام هوایی و ریشه دانهال‌های پسته گردید. در مقابل، پرولین، قندهای محلول و سدیم با افزایش شوری آب در برگ دانهال‌ها انباشته شد. با توجه به نتایج، اگرچه کاربرد سنگ فسفات به‌تنهایی تأثیر چندانی بر شاخص‌های مورد مطالعه نشان نداد، امّا کاربرد هم‌زمان آن با باکتری‌ها بیشترین نقش را در بهبود رشد دانهال‌های پسته به‌ویژه در شرایط شور داشت. بیشترین مقدار وزن خشک اندام هوایی (۱/۸۹ گرم بر دانهال) و ریشه (۱/۵۹ گرم بر دانهال)، کلروفیل b (۱/۳۰ میلی‌گرم بر گرم وزن تر)، کاروتنوئیدها (۱/۳۵ میلی‌گرم بر گرم وزن تر)، قندهای محلول (۵۹/۱ میلی‌گرم بر گرم وزن تر)، پرولین (۳۶/۷ میلی‌گرم بر گرم وزن تر)، مقدار نسبی آب برگ (۹۱/۰ درصد)، شاخص پایداری غشا (۸۴/۰ درصد)، غلظت فسفر اندام هوایی (۰/۳۹ درصد) و غلظت فسفر ریشه (۰/۳۵ درصد) از کاربرد هم‌زمان سنگ فسفات و باکتری‌ها (به‌ویژه سویه PSB_2) در شرایط غیرشور به‌دست آمد. از طرفی، تلقیح با PSB (هم به‌صورت مجزا و هم همراه با سنگ فسفات) موجب کاهش تجمع سدیم در اندام هوایی و ریشه دانهال‌های پسته شد. ازاین‌رو، استفاده از باکتری‌های حل‌کننده فسفات با کارایی بالا و خصوصیات محرک رشدی مناسب، می‌تواند علاوه‌بر افزایش کارایی سنگ فسفات و تأمین فسفر مورد نیاز دانهال‌ها موجب بهبود رشد و افزایش مقاومت آن‌ها به تنش شوری گردد.

واژه‌های کلیدی: باکتری‌های محرک رشد گیاه، تنش شوری، جذب آب، منابع فسفر

مقدمه

پسته (*Pistacia vera* L.) یکی از مهم‌ترین محصولات صادراتی باغبانی ایران بوده و ایران پس از ایالات متحده آمریکا و ترکیه سومین تولیدکننده پسته در جهان است (FAOSTAT, 2020). براساس آمارنامه محصولات باغی وزارت جهاد کشاورزی در سال ۱۳۹۹، سطح زیر کشت پسته در ایران حدود ۵۳۴ هزار هکتار بوده و میزان تولید آن حدود ۳۸۶ هزار تن در سال می‌باشد. با وجود افزایش سطح زیر کشت پسته در ایران، عملکرد این محصول همچنان پایین است. عملکرد پسته در ایران به‌دلیل pH و محتوای کلسیم کربنات بالای خاک، مواد آلی

۱ و ۲- به‌ترتیب استادیار و دانشیار، گروه علوم و مهندسی خاک، دانشکده کشاورزی، دانشگاه بیرجند، بیرجند، ایران
(*- نویسندهٔ مسئول: Email: farhadazarmi@birjand.ac.ir)
۳- دانش آموخته کارشناسی ارشد، گروه مهندسی تولید و ژنتیک گیاهی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه بیرجند، بیرجند، ایران

https://doi.org/10.22067/jhs.2023.78915.1194

کم در خاک، شوری خاک و آب آبیاری، حاصلخیزی ضعیف خاک و مدیریت ضعیف تغذیه‌ای بسیار پایین است (Azarmi *et al.*, 2016).

اگرچه پسته از گیاهان مقاوم به شوری محسوب می‌شود، امّا افزایش شوری به‌دلیل کیفیت پایین آب آبیاری، مدیریت ضعیف و هم چنین ماهیت و ساختار طبیعی خاک استقرار، رشد و عملکرد درختان پسته را در مناطق مختلف ایران کاهش داده است (Tavalali *et al.*, 2009). شوری خاک یکی از گسترده‌ترین تنش‌های محیطی است که رشد و عملکرد گیاهان زراعی و باغی را به‌ویژه در مناطق خشک و نیمه خشک محدود کرده است (Meloni *et al.*, 2001). عمده‌ترین دلیل افزایش شوری در اراضی کشاورزی مربوط به آبیاری با آب‌های زیرزمینی حاوی غلظت بالای نمک‌های محلول، مدیریت ضعیف اراضی و هم‌چنین ساختار و ماهیت طبیعی خاک است. تحت تنش شوری، به‌دلیل تغییرات در فراهمی عناصر غذایی، توزیع و انتقال آن‌ها در بخش‌های مختلف گیاه و یا تخریب فیزیولوژیکی برخی از اندام‌های دخیل گیاه در جذب عناصر غذایی، تعادل تغذیه‌ای گیاه از بین می‌رود (Grattan & Grieve, 1999). از طرفی، غلظت بالای سدیم در این شرایط، جذب سایر عناصر مانند پتاسیم، منیزیم و کلسیم را کاهش داده و کمبود آن‌ها در گیاه مشاهده می‌شود (Iqbal & Ashraf, 2013). علاوه‌بر اثرات مستقیم شوری بر گیاه، در خاک‌های شور، عدم تعادل تغذیه‌ای، از مهم‌ترین دلایل کاهش رشد و عملکرد گیاه می‌باشد. در خاک‌های شور، فعالیت عناصر غذایی نظیر فسفر به‌دلیل افزایش قدرت یونی محیط کاهش می‌یابد (Grattan & Grieve, 1999).

فسفر (P) یکی از عناصر غذایی ضروری مورد نیاز گیاهان برای رشد و عملکرد می‌باشد. این عنصر نقشی اساسی در فرآیندهای مهم سلولی مانند حفظ ساختار غشا، تقسیم سلولی، تولید مولکول‌های زیستی و در نتیجه، متابولیسم کربوهیدرات‌ها و فعال کردن آنزیم‌ها دارد (Razaq *et al.*, 2017). غلظت فسفر در گیاهان بین ۰/۰۵ تا ۰/۵ درصد وزن خشک گیاه می‌باشد (Malhorta *et al.*, 2018). حد بحرانی فسفر در خاک برای گیاهان مختلف ۱۰ تا ۲۰ میلی‌گرم در کیلوگرم است. براساس مطالعات انجام شده، مقدار فسفر حدود ۷۱ درصد خاک‌های کشاورزی ایران کمتر از حد بحرانی است (Shahbazi & Besharati, 2013). متداول‌ترین روش برای جبران کمبود فسفر خاک، استفاده از کودهای فسفاته می‌باشد. بخش اعظمی از کودهای فسفاته اضافه شده به خاک، طی واکنش‌های رسوبی با یون‌های آهن و آلومینیوم در خاک‌های اسیدی و با یون کلسیم در خاک‌های قلیایی و آهکی وارد فاز جامد می‌شود (Ayeni *et al.*, 2012) که نتیجه آن، مصرف بیش از پیش این کودها می‌باشد. استفاده بیش از حد کودهای شیمیایی علاوه‌بر مشکلات زیست‌محیطی و افزایش شوری خاک، از نظر اقتصادی نیز مقرون‌به‌صرفه نیست (Kang *et al.*, 2011). ازاین رو، استفاده از منابع ارزان قیمت نظیر سنگ فسفات برای تأمین فسفر مورد نیاز گیاهان رو به افزایش است. مشکل اصلی سنگ فسفات حلالیت و کارایی کم آن به‌ویژه در خاک‌های آهکی است (Naeem *et al.*, 2013).

گزارش شده است که از روش‌های افزایش کارایی سنگ فسفات و همچنین، فراهمی فسفر خاک استفاده از باکتری‌های حل‌کننده فسفات (PSB) می‌باشد. سازوکار اصلی باکتری‌های حل‌کننده فسفات در افزایش فراهمی فسفر، کاهش pH از طریق تولید پروتون، اسیدهای آلی، اسیدهای معدنی و آنزیم فسفاتاز می‌باشد (Alori *et al.*, 2017). براساس برخی مطالعات انجام شده، خصوصیات محرک رشدی باکتری‌ها نظیر توان حل‌کنندگی فسفات‌های کم محلول، در شرایط تنش‌های محیطی نظیر شوری و خشکی انجام می‌گیرد. از طرفی، باکتری‌های حل‌کننده فسفات برای فعالیت و تولید ترکیبات محرک رشدی در خاک‌های شور، می‌بایست متحمل به شوری نیز باشند. این باکتری‌ها می‌توانند تحمل گیاه به تنش شوری و کارایی کودهای فسفاته را افزایش دهند (Khan *et al.*, 2014). این باکتری‌ها توانایی تولید ترکیبات ثانویه متعدد و آنزیم‌های مختلف مانند ACC- دآمیناز را دارا هستند. آنزیم ACC- دآمیناز نقش مهمی در افزایش مقاومت گیاهان به تنش شوری و کاهش اثرات این تنش بر گیاه با تنظیم و تعدیل سطح اتیلن دارد (Glick, 2004). کاربرد باکتری‌های حل‌کننده فسفات می‌تواند مصرف کودهای فسفاته را تا ۵۰ درصد بدون تأثیر معنی‌دار بر عملکرد گیاه کاهش دهد (Jilani *et al.*, 2007). تلقیح با باکتری *سودوموناس پوتیدا* توانست با کاهش سطح اسید آبسیزیک و افزایش غلظت ایندول استیک اسید در برگ، مقاومت مرکبات به تنش شوری را افزایش دهد (Vives-Peris *et al.*, 2018). زینلی بافقی و همکاران (Zeinali Bafghi *et al.*, 2020) بیان کردند استفاده از باکتری‌های محرک رشد گیاه باعث افزایش شاخص‌های رشد گیاه، شامل وزن تر و خشک اندام‌های هوایی و ریشه، سطح برگ و تعداد برگ گیاه پسته در خاک شور شد. هم‌چنین سرچشمه‌پور و همکاران (Sarcheshmehpour *et al.*, 2015) گزارش کردند که استفاده از ریزجانداران بومی باغات پسته توانست کارایی خاک فسفات و رشد نهال‌های پسته را در شرایط شور افزایش دهد.

در سال‌های اخیر با توجه به خصوصیات اقلیمی استان خراسان جنوبی، سطح زیر کشت پسته در این استان رو به افزایش بوده است. به‌طوری‌که براساس محصولات باغی وزارت جهاد کشاورزی در سال ۱۳۹۹ این استان دارای رتبه پنجم در سطح زیر کشت و تولید پسته در کشور می‌باشد. امّا افزایش شوری زمین‌های کشاورزی در مناطق پسته‌کاری و وضعیت ضعیف حاصلخیزی خاک آن‌ها، استقرار، رشد و عملکرد نهال‌ها و درختان پسته را با مشکل مواجه کرده است. از طرفی،

کارایی پایین کودهای فسفاته (کمتر از ۳۰ درصد) و قیمت بالای آن‌ها، یافتن منابع جایگزین تأمین فسفر را بیش از پیش ضروری ساخته است. ازاین‌رو، هدف این مطالعه بررسی تأثیر باکتری‌های حل‌کننده فسفات مقاوم به شوری در افزایش فراهمی فسفر از سنگ فسفات و بهبود رشد دانهال‌های پسته در سطوح شوری آب آبیاری می‌باشد.

مواد و روش‌ها

این پژوهش به‌صورت فاکتوریل و در قالب طرح کامل تصادفی با سه تکرار در گلخانه تحقیقاتی دانشکده کشاورزی دانشگاه بیرجند در سال ۱۴۰۰ انجام شد. فاکتورهای آزمایش شامل باکتری‌های حل‌کننده فسفات در سه سطح [شاهد (PSB_0)، باکتری *Pseudomonas sp.* 1 (PSB_1) و باکتری *Pseudomonas sp.* 2 (PSB_2)]، سنگ فسفات در دو سطح (صفر و ۳۰ میلی‌گرم فسفر در کیلوگرم خاک) و شوری آب آبیاری در سه سطح (شاهد، ۵ و ۱۰ دسی‌زیمنس بر متر از منبع NaCl) بود. باکتری‌های مورد استفاده در این پژوهش از بانک میکروبی گروه علوم و مهندسی خاک دانشکده کشاورزی دانشگاه بیرجند انتخاب شدند که قبلاً از خاک‌های شور جداسازی شده بودند. این باکتری‌ها توانایی انحلال تری کلسیم فسفات در دو محیط جامد و مایع، تولید ایندول استیک اسید، سیدروفور و آنزیم ACC- دآمیناز در شرایط آزمایشگاهی را داشتند (Azarmi *et al.*, 2015). خاک مورد استفاده در این پژوهش از یکی از مناطق کشاورزی استان خراسان جنوبی با درجه شوری مناسب انتخاب گردیده و برخی از خصوصیات فیزیکی و شیمیایی آن تعیین گردید (جدول ۱). پس از گذراندن خاک تهیه شده از الک چهار میلی‌متری، به هر گلدان دو کیلوگرم خاک همگن ریخته شد. پودر سنگ فسفات نیز که از معدن آسفوردی یزد تهیه شده بود، براساس تیمارها قبل از کاشت با خاک مخلوط شد. برای کاشت، ابتدا در هر گلدان چهار بذر جوانه زده پسته (رقم 'بادامی ریز زرند') در عمق سه سانتی‌متری قرار داده شد و برای جلوگیری از آلودگی دیگر تیمارها، ابتدا تیمارهای بدون تلقیح کشت شدند. برای تلقیح، روی هر بذر ۵۰۰ میکرولیتر از سوسپانسیون باکتری‌های مورد نظر (آماده شده در محیط Nutrient Broth با جمعیت 10^8 سلول در میلی‌لیتر) اضافه شد. چهار هفته پس از کاشت، تعداد دانهال‌ها در هر گلدان به دو عدد کاهش داده شد. آبیاری گلدان‌ها به‌مدت چهار هفته با آب غیرشور (۱/۲۰ دسی‌زیمنس بر متر) انجام شد و پس از آن تا زمان برداشت، آبیاری با استفاده از آب‌های شور تهیه شده از نمک کلریدسدیم (NaCl) و براساس نقشه طرح انجام شد. لازم به ذکر است که در طول دوره رشد، رطوبت خاک گلدان‌ها در حدود ۸۰ درصد ظرفیت زراعی (FC) به‌روش وزنی نگهداری شد. در طول دوره رشد، دمای گلخانه در روز و شب به‌ترتیب ۲±۲۸ و ۲±۱۹ درجه سانتی‌گراد و رطوبت نسبی ۴۵ درصد بود. در انتهای دوره رشد (هفته بیستم پس از کاشت)، دانهال‌ها از محل طوقه قطع و وزن خشک اندام‌هوایی و ریشه پس از خشک کردن نمونه‌ها به‌مدت ۴۸ ساعت در دمای ۷۰ درجه سانتی‌گراد در آون با استفاده از ترازوی دیجیتال اندازه‌گیری شد. برای اندازه‌گیری مقدار کلروفیل a و کلروفیل b، نمونه برگ تازه از برگ‌های سالم و بالغ تهیه شد. سپس ۰/۲۵ گرم از نمونه برگ تازه در هاون چینی با پنج میلی‌لیتر استون ۸۰ درصد ساییده شد تا به‌صورت محلول یکنواخت درآید. سپس نمونه‌ها به لوله‌های سانتریفوژ منتقل و به‌مدت ۱۰ دقیقه با دور ۳۵۰۰ در دقیقه سانتریفوژ شدند. در نهایت، میزان جذب نور در محلول رویی توسط اسپکتروفتومتر (Shimadzu BioSpec-1601, Japan) در طول موج‌های ۶۴۶/۴ و ۶۶۳/۶ نانومتر قرائت و غلظت کلروفیل محاسبه شد (Porra, 2002). اندازه‌گیری مقدار کاروتنوئیدها نیز در همان عصاره تهیه شده برای اندازه‌گیری کلروفیل و تعیین میزان جذب در طول موج ۴۷۰ نانومتر انجام گردید (Lichtenthaler & Wellburn, 1983). برای تعیین غلظت پرولین، نمونه تازه برگ با اتانول ۹۵ درصد ساییده شده و پس از سانتریفوژ کردن به محلول رویی معرف ناین هیدرین، اسید فسفریک و اسید استیک گلایسیال اضافه شد. سپس نمونه‌ها در حمام آب گرم قرار داده شده و پس از خنک شدن به آن‌ها بنزن اضافه گردید. در نهایت، پس از انجام واکنش، مقدار جذب در طول موج ۵۱۵ نانومتر اندازه‌گیری شد (Paquin & Lechasseur, 1979). برای اندازه‌گیری قندهای محلول، عصاره الکلی که قبلاً برای اندازه‌گیری پرولین تهیه شده بود را با آنترون تازه تهیه شده، مخلوط کرده و به‌مدت ۱۰ دقیقه در حمام آب‌گرم قرار داده شد تا واکنش انجام و محلول رنگی شود. پس از خنک شدن، میزان جذب آن با استفاده از اسپکتروفتومتر در طول موج ۶۲۵ نانومتر شد (Irigoyen *et al.*, 1992). برای تعیین مقدار نسبی آب برگ (RWC)، ۰/۵ گرم از نمونه در ۱۰۰ میلی‌لیتر آب مقطر قرار داده شد. پس از مدت چهار ساعت، وزن برگ در حالت تورژسانس اندازه‌گیری گردید. پس از آن، نمونه‌ها در دمای ۷۰ درجه سلسیوس درون آون خشک شده و مقدار RWC از معادله زیر محاسبه شد (Gonzalez & Gonzalez-Vilar, 2003):

$$RWC\ (\%) = [(\text{وزن تازه} - \text{وزن خشک})/(\text{وزن آماس} - \text{وزن خشک})] \times 100$$

برای اندازه‌گیری شاخص پایداری غشا (MSI) از هر برگ دو نمونه تهیه و در ۱۰ میلی‌لیتر آب مقطر قرار داده شد. یک نمونه در دمای ۴۰ درجه سانتی‌گراد به‌مدت ۳۰ دقیقه (EC_1) و نمونه دیگری در دمای ۱۰۰ درجه سانتی‌گراد به‌مدت ۱۵ دقیقه (EC_2) درون حمام آب قرار داده شدند. سپس هدایت الکتریکی نمونه‌ها اندازه‌گیری و از معادله زیر مقدار این شاخص محاسبه شد (Sairam, 1994):

$$MSI = [1 - (EC_1/EC_2)] \times 100$$

برای اندازه‌گیری غلظت عناصر فسفر و سدیم در برگ و ریشه، نمونه‌ها در دمای ۷۰ درجه سانتی‌گراد خشک و سپس، درون کوره با دمای ۵۰۰ درجه سانتی‌گراد خاکستر شدند. سپس نمونه‌های خاکستر شده با استفاده از اسیدکلریدریک دو نرمال عصاره‌گیری شده و برای تهیه عصاره شفاف از کاغذ صافی عبور داده شدند. در نهایت، غلظت سدیم با استفاده از فلیم فتومتر و غلظت فسفر به‌روش مولیبدات- وانادات با استفاده از اسپکتروفتومتر تعیین شدند. (Chapman & Pratt, 1961).

تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار SAS انجام شد. مقایسه میانگین‌ها با استفاده از آزمون LSD در سطح احتمال یک و پنج درصد انجام گرفت. برای رسم نمودارها نیز از نرم‌افزار Excel استفاده شد.

جدول ۱- ویژگی‌های خاک مورد استفاده در آزمایش

Table 1- The properties of the soil used in this experiment

بافت خاک Texture	pH	هدایت الکتریکی EC (dS.m^{-1})	مواد آلی Organic matter (%)	درصد اشباع Saturated percentage	فسفر P (mg.kg^{-1})	پتاسیم K (mg.kg^{-1})	سدیم Na (mg.l^{-1})	کلسیم Ca (mg.l^{-1})	منیزیم Mg (mg.l^{-1})
Sandy Loam	7.50	1.40	0.57	30	7.12	179	168	112	91

نتایج و بحث

وزن خشک اندام هوایی و ریشه

نتایج تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد که اثرات اصلی و متقابل باکتری‌های حل‌کننده فسفات، سنگ فسفات و شوری آب آبیاری بر وزن خشک اندام هوایی و ریشه دانهال‌های پسته معنی‌دار ($p<0.05$) شد (جدول ۲). نتایج آزمایش مشخص کرد که افزایش شوری آب آبیاری به ۵ و ۱۰ دسی زیمنس بر متر وزن خشک اندام هوایی را به‌ترتیب ۱۴ و ۳۶ درصد و وزن خشک ریشه را به‌ترتیب ۱۷ و ۵۸ درصد در مقایسه با شاهد کاهش داد (جدول ۳). نتایج بیانگر واکنش شدید ریشه نسبت به اندام هوایی دانهال‌های پسته در برابر شوری است. در محیط‌های شور به‌دلیل اثرات منفی پتانسیل اسمزی پایین محلول خاک و جذب کم آب و عناصر غذایی و تأثیر سوء شوری بر فتوسنتز و فرآیندهای جانبی آن، انرژی لازم برای رشد مناسب ریشه و اندام هوایی در اختیار آن‌ها قرار نمی‌گیرد. شوری طولانی‌مدت موجب پیری زودرس برگ‌های بالغ و کاهش شدید رشد گیاه می‌شود (Munns and Tester, 2008). کاهش رشد پارامترهای رویشی گیاه از جمله وزن خشک نهال‌های پسته تحت تنش شوری توسط پژوهشگران مختلف گزارش شده است (Ferguson *et al.*, 2002; Azarmi *et al.*, 2016). کاربرد تنهای سنگ فسفات تأثیر معنی‌داری به‌ویژه در شرایط شور بر وزن خشک دانهال‌های پسته نشان نداد. از طرفی، تلقیح با باکتری‌های حل‌کننده فسفات PSB_1 و PSB_2 وزن خشک اندام هوایی را در تمام سطوح شوری نسبت به همان سطح شوری افزایش معنی‌داری داد. امّا در وزن خشک ریشه، فقط کاربرد PSB_2 براین پارامتر در تمام سطوح شوری مؤثر بود. با توجه به نتایج به‌دست آمده، کاربرد هم‌زمان سنگ فسفات با هر دو سویه موجب افزایش معنی‌دار وزن خشک اندام هوایی و ریشه دانهال‌های پسته در تمام سطوح شوری در مقایسه با همان سطح شوری گردید. اگرچه کارایی باکتری PSB_2 در این افزایش بیشتر از باکتری PSB_1 بود. بیشترین وزن خشک اندام هوایی و ریشه دانهال‌ها به‌ترتیب برابر ۱/۸۹ و ۱/۵۹ گرم بر نهال بود که از کاربرد هم‌زمان سنگ فسفات و PSB_2 در شرایط غیرشور حاصل گردید (جدول ۳). باکتری‌های جنس *سودوموناس* به‌دلیل تولید طیف وسیعی از ترکیبات مختلف و تحریک رشد گیاهان در خاک‌های شور، نقش مهمی در افزایش حاصلخیزی خاک و کاهش تنش شوری در گیاه دارند (Mishra *et al.*, 2010). با توجه به تولید هورمون اسید ایندول استیک (IAA) و انحلال فرم‌های کم‌محلول فسفر توسط باکتری‌های مورد استفاده در این پژوهش، می‌توان بهبود رشد دانهال‌ها را به آن‌ها نسبت داد. اکسین تولید شده توسط این باکتری‌ها می‌تواند به‌صورت مستقیم موجب افزایش تقسیم و رشد سلول شده و یا به‌صورت غیرمستقیم موجب افزایش تولید آنزیم ACC- دآمیناز شود (Patten & Glick, 2002). به نظر می‌رسد که هورمون اکسین و آنزیم ACC- دآمیناز در افزایش رشد گیاه مکمل یکدیگر هستند. شاهارونا و همکاران (Shaharroona *et al.*, 2006) گزارش کردند که تلقیح با باکتری‌های محرک رشد گیاه تولیدکننده IAA موجب افزایش وزن ریشه، رشد طولی و انشعابات فرعی ریشه و تولید ریشه‌های نازک‌تر شده و در نتیجه، جذب آب و عناصر غذایی را افزایش می‌دهند.

جدول ۲- تجزیه واریانس (میانگین مربعات) اثر باکتری‌های حل‌کننده فسفات و سنگ فسفات بر رشد و برخی ویژگی‌های فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی دانهال‌های پسته در سطوح مختلف شوری آب آبیاری

Table 2- ANOVA (mean squares) for the effect of PGPR on the growth, physiological and biochemical traits of pistachio seedlings irrigated by different levels of water salinity

منابع تغییر S.O.V	درجه آزادی df	وزن خشک اندام‌هوایی Shoot dry weight	وزن خشک ریشه Root dry weight	کلروفیل a Chlorophyll a	کلروفیل b Chlorophyll b	کاروتنوئید Carotenoids	قندهای محلول برگ Leaf soluble sugars	پرولین برگ Leaf proline
سنگ فسفات Rock phosphate (RP)	1	0.96**	0.34**	0.015*	0.003ns	0.10**	1568**	208**
باکتری Bacteria (PSB)	2	0.56**	0.44**	0.48**	0.28**	0.14**	579**	493**
شوری Salinity (S)	2	1.74**	2.47**	1.23**	1.64**	1.16**	1275**	1617**
RP × PSB	2	0.005ns	0.044**	0.003ns	0.003ns	0.005*	73.7**	10.5*
RP × PSB	2	0.006ns	0.020**	0.043**	0.004*	0.007**	104**	1.49ns
PSB × S	4	0.064**	0.050**	0.030**	0.016**	0.008**	6.24ns	33.6**
RP × PSB × S	4	0.010*	0.009*	0.002ns	0.003*	0.005**	36.2**	8.08*
خطا Error	36	0.004	0.003	0.003	0.0009	0.0008	9.46	2.87
ضریب تغییرات CV (%)		5.54	6.65	3.79	3.63	2.93	8.69	9.93

منابع تغییر S.O.V	درجه آزادی df	مقدار نسبی آب برگ RWC	شاخص پایداری غشا MSI	غلظت فسفر اندام‌هوایی Shoot P concentration	غلظت فسفر ریشه Root P concentration	غلظت سدیم اندام هوایی Shoot Na concentration	غلظت سدیم ریشه Root Na concentration
سنگ فسفات Rock phosphate (RP)	1	222*	642**	0.064**	0.008**	0.0006ns	0.003*
باکتری Bacteria (PSB)	2	1070**	1181**	0.13**	0.063**	0.41**	0.036*
شوری Salinity (S)	2	1882**	3193**	0.059**	0.041**	0.416**	0.175**
RP × PSB	2	4.61ns	10.2 ns	0.013**	0.002**	0.0001ns	0.0002ns
RP × PSB	2	7.03ns	42.7**	0.002*	0.0002ns	0.018**	0.004**
PSB × S	4	54.9**	40.2**	0.004**	0.0008**	0.003**	0.001*
RP × PSB × S	4	19.4*	18.2*	0.002**	0.0005*	0.0008ns	0.0001ns
خطا Error	36	6.95	5.84	0.0004	0.0001	0.0007	0.0004
ضریب تغییرات CV (%)		3.89	4.45	10.2	6.33	9.03	6.28

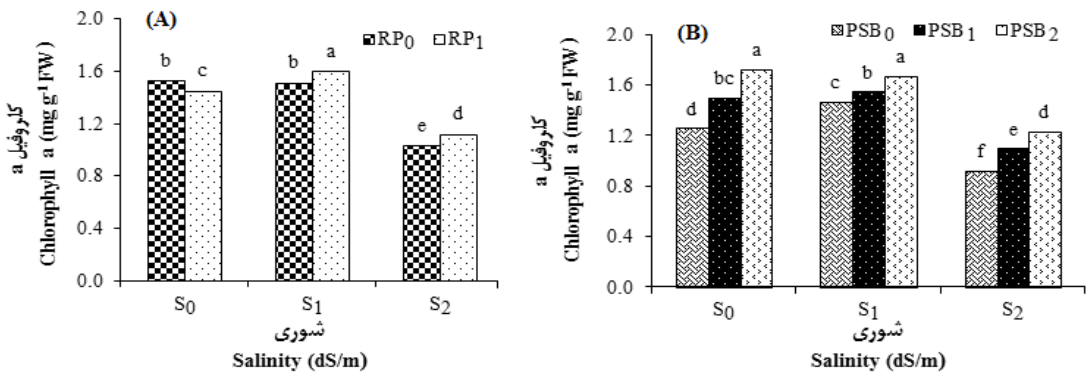
ns، ** و * به‌ترتیب عدم معنی‌داری، معنی‌داری در سطح احتمال ۱ و ۵ درصد.

ns, ** and *: non-significant, and significant at $p \leq 0.01$ and $p \leq 0.05$, respectively.

RWC: Relative Water Content, MSI: Membrane Stability Index

مقدار کلروفیل a، کلروفیل b و کاروتنوئیدها

نتایج آزمایش بیانگر تأثیر معنی‌دار اثرات اصلی باکتری‌های حل‌کننده فسفات، سنگ فسفات و شوری آب آبیاری و همچنین برهم‌کنش سنگ فسفات و شوری و برهم‌کنش باکتری و شوری بر مقدار کلروفیل a برگ ($p<0.01$) بود (جدول ۲). نتایج نشان داد اگرچه سطح شوری ۵ دسی زیمنس بر متر اثر معنی‌داری بر کلروفیل a نداشت، امّا با افزایش شوری آب آبیاری به ۱۰ دسی زیمنس بر متر، مقدار این پارامتر ۳۲ درصد کاهش یافت. غلظت کلروفیل در گیاهان رشد کرده تحت تنش می‌تواند معیار مناسبی برای تخمین مقاومت آن به تنش باشد. کاهش مقدار کلروفیل در شرایط شور می‌تواند به‌دلیل اثر بازدارندگی یون‌های سدیم و کلر در بیوسنتز رنگیزه‌ها، تخریب سنتز و یا تشدید تجزیه آن‌ها باشد (Ashraf & Harris, 2013). کاهش رنگدانه‌های فتوسنتزی تحت تأثیر شوری ممکن است ناشی از کاهش سنتز کمپلکس اصلی رنگدانه کلروفیل، تخریب نوری کمپلکس پروتئینی رنگدانه‌های a و b که محافظت‌کننده دستگاه فتوسنتزی هستند، آسیب اکسیداتیو لیپیدهای کلروپلاست، رنگدانه‌ها و پروتئین‌ها یا افزایش فعالیت آنزیم کلروفیلاز باشد (Egert & Tevini, 2002). کاربرد سنگ فسفات در شرایط غیرشور موجب کاهش، ولی در شرایط شور موجب افزایش معنی‌دار کلروفیل a نسبت به همان سطح شوری گردید (شکل ۱-A). کمبود فسفر می‌تواند با محدود کردن رشد ریشه، جذب عناصر غذایی مختلف مانند نیتروژن را کاهش داده و بدین‌ترتیب موجب کاهش سطح رنگدانه‌های فتوسنتزی در برگ شود (Fageria *et al.*, 2009). همچنین براساس نتایج برهم‌کنش باکتری و شوری، کاربرد هر دو سویه باکتری غلظت کلروفیل a را در تمام سطوح شوری در مقایسه با همان سطح شوری افزایش داد. کمترین مقدار غلظت این پارامتر از سطح شوری ۱۰ دسی‌زیمنس بر متر (۰/۹۱ میلی‌گرم بر گرم وزن تر) و بیشترین آن از تلقیح باکتری PSB_2 در شرایط غیرشور (۱/۷۲ میلی‌گرم بر گرم وزن تر) به‌دست آمد که با تیمار کاربرد باکتری PSB_1 در سطح شوری ۵ دسی‌زیمنس بر متر اختلاف معنی‌داری نداشت (شکل ۱-B). باکتری‌ها با توسعه ریشه و افزایش دسترسی به آب و عناصر غذایی، کارایی مصرف آب در محیط شور را افزایش داده و در نتیجه، تأثیر شوری بر فتوسنتز را کاهش می‌دهند. ماراته و همکاران (Marathe *et al.*, 2017) بیان کردند که استفاده از باکتری‌های حل‌کننده فسفات تولیدکننده IAA (*سودوموناس ایروژینوزا*) توانست جذب نیتروژن، پتاسیم و فسفر و غلظت کلروفیل در گیاه را افزایش دهد.



شکل ۱- برهم‌کنش سنگ فسفات × شوری آب آبیاری (A) و باکتری‌های حل‌کننده فسفات × شوری آب آبیاری (B) بر محتوای کلروفیل a برگ دانهال‌های پسته

Figure 1- The interaction effects of rock phosphate ×salinity (A), and PSB ×salinity (B) on the leaf chlorophyll a content of pistachio seedlings (LSD, $p \leq 0.05$)

نتایج تجزیه واریانس داده‌ها حاکی از معنی‌دار بودن ($p<0.05$) اثرات اصلی و متقابل باکتری‌های حل‌کننده فسفات، سنگ فسفات و شوری آب آبیاری بر مقدار کلروفیل b و کاروتنوئید برگ دانهال‌های پسته داشت (جدول ۲). نتایج نشان داد که با افزایش شوری آب آبیاری به ۵ و ۱۰ دسی زیمنس بر متر، غلظت کلروفیل b به‌طور معنی‌داری کاهش یافت. معمولاً نقش کلروفیل a نسبت به b در فتوسنتز گیاهان غالب‌تر است، امّا تنش شوری موجب نزدیک‌تر شدن ارزش آن‌ها به‌هم می‌شود (Mane *et al.*, 2011). موسوی و همکاران (Mousavi *et al.*, 2008) نشان دادند که افزایش غلظت کلرید سدیم از ۴۰ به ۱۶۰ میلی‌مولار موجب کاهش کلروفیل a، b و a+b در درختان زیتون شد. کریمی و همکاران (Karimi *et al.*, 2009) نشان دادند که با افزایش شوری میزان فتوسنتز خالص در دو رقم پسته بادامی و قزوینی کاهش یافت. همچنین در مقادیر بالای شوری غلظت کلروفیل a، b و کلروفیل کل در هر دو رقم کاهش نشان داد. کاربرد تنهای سنگ فسفات نیز

تأثیر معنی‌داری بر مقدار این پارامتر در هیچ‌کدام از سطوح شوری نشان نداد. از طرفی، تلقیح با باکتری PSB_1 و در سطوح شوری صفر و ۵ دسی‌زیمنس بر متر و تلقیح با باکتری PSB_2 در تمام سطوح شوری مقدار کلروفیل b را در مقایسه با همان سطح شوری به‌طور معنی‌داری افزایش داد. همچنین کاربرد همزمان هر دو سویه با سنگ فسفات موجب افزایش معنی‌دار این پارامتر در تمام سطوح شوری گردید. هرچند، بیشترین مقدار کلروفیل b از تلقیح باکتری PSB_2 در شرایط غیرشور برابر با ۱/۳۰ میلی‌گرم بر گرم وزن تر به‌دست آمد (جدول ۳). افزایش غلظت کلروفیل در نهال‌های تلقیح شده با باکتری‌ها می‌تواند به‌دلیل افزایش جذب عناصر غذایی دخیل در ساختار کلروفیل از جمله منیزیم، آهن و منگنز باشد. هم‌چنین باکتری‌ها کارایی مصرف آب را در محیط شور افزایش داده و بدین ترتیب، تأثیر شوری بر فتوسنتز را کاهش می‌دهند. باکتری‌ها علاوه‌بر افزایش فراهمی فسفر خاک، با تأثیر بر مورفولوژی ریشه، جذب فسفر و غلظت کلروفیل را افزایش می‌دهند. الهایسوفی و همکاران (Elhaissoufi *et al.*, 2020) نشان دادند که کاربرد باکتری‌های حل‌کننده فسفات همراه با سنگ فسفات مقدار کلروفیل a و b را در گندم افزایش داد.

باتوجه به نتایج این آزمایش، مقدار کاروتنوئیدهای برگ با افزایش شوری آب آبیاری به ۵ و ۱۰ دسی زیمنس بر متر به‌ترتیب ۱۷ و ۴۶ درصد نسبت به شاهد در همان سطح شوری کاهش یافت. کاروتنوئیدها علاوه‌بر دخالت مستقیم در فرآیند فتوسنتز، در افزایش مقاومت سیستم‌های دفاعی گیاهان برابر تنش‌های اکسیداتیو نیز نقش دارند (Parida & Das, 2005). از طرفی، اگرچه کاربرد تنهای سنگ فسفات فقط در سطح شوری ۵ دسی زیمنس بر متر موجب افزایش معنی‌دار این پارامتر شد، امّا کاربرد همزمان سنگ فسفات با باکتری‌ها غلظت کاروتنوئیدها را در تمام سطوح شوری نسبت به همان سطح شوری به طور معنی‌داری افزایش داد. بیشترین مقدار کاروتنوئیدهای برگ مربوط به کاربرد باکتری در شرایط غیرشور (۱/۳۵ میلی‌گرم بر گرم وزن تر) و کمترین مقدار آن مربوط به سطح شوری ۱۰ دسی زیمنس بر متر (۰/۵۸ میلی‌گرم بر گرم وزن تر) بود (جدول ۳). آذرمی و همکاران (Azarmi *et al.*, 2016) گزارش کردند که تلقیح نهال‌های پسته با باکتری‌های سودوموناس فلوروسنت موجب افزایش رشد و غلظت کاروتنوئیدهای برگ در شرایط شور گردید. همچنین افزایش غلظت کلروفیل و کاروتنوئیدها در نهال‌های برنج تلقیح شده با باکتری *Bacillus* spp. گزارش شده است (Khan *et al.*, 2021).

جدول ۳- اثر متقابل باکتری‌های حل‌کننده فسفات و سنگ فسفات بر وزن خشک اندام هوایی و ریشه و محتوای کلروفیل b و کاروتنوئیدهای برگ دانهال‌های پسته در سطوح مختلف شوری آب آبیاری

Table 3- The interaction effect of rock phosphate ×PSB on the shoot and root dry weight, and chlorophyll b and carotenoids contents of pistachio seedlings irrigated by different levels of water salinity

باکتری Bacteria	سنگ فسفات Rock phosphate	شوری Salinity ($dS.m^{-1}$) 0	5	10	شوری Salinity ($dS.m^{-1}$) 0	5	10
		وزن خشک اندام هوایی Shoot dry weight ($g.plant^{-1}$)			وزن خشک ریشه Root dry weight ($g.plant^{-1}$)		
PSB_0	RP_0	0.96 fg	0.82 hi	0.61 k	0.87 ef	0.72 g	0.36 i
	RP_1	1.01 f	0.98 fg	0.67 jk	1.10 d	0.75 g	0.40 i
PSB_1	RP_0	1.32 cd	1.15 e	0.75 ij	1.21 c	0.81 fg	0.44 i
	RP_1	1.53 b	1.26 d	0.92 gh	1.45 b	1.09 d	0.74 g
PSB_2	RP_0	1.49 b	1.14 e	0.74 ij	1.36 b	0.86 ef	0.58 h
	RP_1	1.89 a	1.34 c	1.02 f	1.59 a	0.91 e	0.62 h
		کلروفیل b Chlorophyll b ($mg.g^{-1}$ FW)			کاروتنوئید Carotenoids ($mg.g^{-1}$ FW)		
PSB_0	RP_0	0.92 e	0.71 g	0.45 k	1.08 ef	0.89 i	0.58 m
	RP_1	0.91 e	0.73 g	0.43 kl	1.12 de	0.94 h	0.60 m
PSB_1	RP_0	1.13 c	0.84 f	0.49 jk	1.29 b	1.01 g	0.71 k
	RP_1	1.15 c	0.90 e	0.53 ij	1.35 a	1.14 d	0.79 j
PSB_2	RP_0	1.30 a	0.93 de	0.56 i	1.20 c	0.94 h	0.66 l
	RP_1	1.24 b	0.97 d	0.62 h	1.23 c	1.05 fg	0.88 i

برای هر صفت میانگین‌هایی که حداقل یک حرف مشترک دارند در سطح احتمال ۵ درصد بر اساس آزمون LSD اختلاف معنی‌داری ندارند.

Values followed by different letters have significant difference according to LSD test at $p<0.05$.

مقدار قندهای محلول و پرولین برگ

نتایج تجزیه واریانس داده‌ها حاکی از معنی‌دار بودن اثرات اصلی و متقابل باکتری‌های حل‌کننده فسفات، سنگ فسفات و شوری آب آبیاری بر مقدار قندهای محلول ($p<0.01$) و پرولین برگ ($p<0.05$) دانهال‌های پسته بود (جدول ۲). با توجه به نتایج مقایسه میانگین‌ها، آبیاری با هر دو سطح شوری آب آبیاری موجب افزایش غلظت قندهای محلول برگ گردید. تجمع قندهای محلول مانند ساکارز در بافت‌های گیاهی تحت شرایط تنش به‌عنوان تنظیم‌کننده اسمزی عمل می‌کند. علاوه‌براین، این ترکیبات می‌توانند با درشت مولکول‌های درون سلول برهم‌کنش داشته و موجب افزایش پایداری و عملکرد آن‌ها شوند (Murakeozy *et al.*, 2003). کریمی و همکاران (Karimi *et al.*, 2009) دلیل تجمع قندهای محلول با افزایش شوری را کاهش میزان فتوسنتز، تبدیل نشاسته به قند و یا مصرف کمتر کربوهیدرات توسط گیاه گزارش کردند. براساس نتایج این پژوهش، کاربرد تنهای سنگ فسفات در هیچ‌کدام از سطوح شوری بر این پارامتر تأثیر معنی‌داری نشان نداد. همچنین، اگرچه کاربرد تنهای باکتری PSB_1 تأثیر معنی‌داری بر مقدار قندهای محلول برگ در هیچ‌کدام از سطوح شوری آب نداشت، امّا کاربرد باکتری PSB_2 موجب افزایش ۸۰ و ۲۴ درصدی مقدار این پارامتر به‌ترتیب در سطوح شوری صفر و ۵ دسی زیمنس بر متر شد. به هر حال، بیشترین تأثیر بر مقدار قندهای محلول را کاربرد هم‌زمان سنگ فسفات و باکتری داشت. به‌طوری‌که بیشترین مقدار این پارامتر (۵۹/۱ میلی‌گرم بر گرم وزن تر) از کاربرد هم‌زمان باکتری PSB_2 و سنگ فسفات در سطح شوری ۱۰ دسی‌زیمنس بر متر و کمترین مقدار آن (۱۴/۶ میلی‌گرم بر گرم وزن تر) از شاهد به‌دست آمد (جدول ۴). افزایش قندهای محلول در گیاهان تلقیح شده با ریزجانداران خاکزی به بهبود وضعیت تغذیه‌ای گیاهان نسبت داده می‌شود. مطالعات نشان داده است که تلقیح با باکتری‌ها از جمله *سودوموناس‌*ها موجب افزایش غلظت و جذب فسفر در گیاه می‌شود. فسفر نقش کلیدی در انتقال انرژی و شکستن کربوهیدرات‌ها دارد (Demir, 2004). از طرفی، تلقیح با این باکتری‌ها سطح هورمون‌های گیاهی مانند سیتوکینین و جیبرلین را در گیاه افزایش می‌دهد که این هورمون‌ها می‌توانند با افزایش انتقال یون‌های مؤثر در باز شدن روزنه‌ها و تنظیم سطح کلروفیل، موجب افزایش سرعت فتوسنتز و در نهایت، محتوای قندهای محلول در گیاهان شوند (Selvaraj & Chellappan, 2006).

براساس نتایج به‌دست آمده، شوری موجب تجمع پرولین در برگ دانهال‌های پسته گردید. به‌طوری‌که در سطح شوری آب ۱۰ دسی زیمنس بر متر، مقدار این پارامتر نسبت به شاهد ۳/۴ برابر افزایش نشان داد. پرولین احتمالاً در سلول‌های تحت تنش، نقش آنتی‌اکسیدانی دارد و با تجمع در سیتوپلاسم سلول‌ها از طریق کاهش پتانسیل اسمزی درون سلولی، تجمع نمک در واکوئل را تنظیم می‌کند (Akhkha *et al.*, 2011). افزایش تجمع پرولین در نهال‌های پسته تحت تنش شوری توسط بهزادی راد و همکاران (Behzadi Rad *et al.*, 2021) نیز گزارش شده است. کاربرد سنگ فسفات نیز فقط در سطح شوری ۱۰ دسی‌زینس بر متر بر مقدار پرولین برگ اثر معنی‌دار داشت که موجب افزایش غلظت آن شد. شهریاری‌پور و همکاران (Shahriaripour *et al.*, 2011) گزارش کردند که کاربرد فسفر موجب کاهش غلظت پرولین برگ نهال‌های پسته در سطوح مختلف شوری شد. همچنین تلقیح با باکتری PSB_2 مقدار پرولین برگ را در سطوح شوری صفر، ۵ و ۱۰ دسی‌زیمنس بر متر به‌ترتیب ۷۴، ۶۹ و ۹۴ درصد نسبت به همان سطح شوری افزایش معنی‌دار داد. از طرفی، کاربرد هم‌زمان باکتری‌ها با سنگ فسفات تأثیر بیشتری بر مقدار پرولین برگ داشت. بیشترین مقدار این پارامتر (۳۶/۷ میلی‌گرم بر گرم وزن تر) از کاربرد هم‌زمان سنگ فسفات و باکتری PSB_2 در سطح شوری ۱۰ دی زیمنس بر متر به‌دست آمد که با کاربرد تنهای باکتری PSB_2 در سطح شوری ۱۰ دی زیمنس بر متر اختلاف معنی‌داری نداشت (جدول ۴). سویه‌های مختلف باکتری‌های محرک رشد گیاه با افزایش سنتز پرولین در گیاهان رشد کرده در شرایط تنش موجب حفظ آب سلول می‌شوند (Sziderics *et al.*, 2007). افزایش غلظت پرولین در گیاهان تلقیح شده با این باکتری‌ها را می‌توان به تنظیم مسیرهای سنتز پرولین برای حفظ سطح بالای آن در درون سلول نسبت داد. آذرمی و همکاران (Azarmi *et al.*, 2016) نیز نشان دادند که باکتری‌های محرک رشد گیاه موجب افزایش پرولین در برگ نهال‌های پسته شد.

مقدار نسبی آب (RWC) و شاخص پایداری غشای (MSI) برگ

با توجه به نتایج تجزیه واریانس داده‌ها، اثرات اصلی و متقابل باکتری‌های حل‌کننده فسفات، سنگ فسفات و شوری آب آبیاری بر مقدار نسبی آب و شاخص پایداری غشای برگ دانهال‌های پسته معنی‌دار ($p<0.05$) شد (جدول ۲). نتایج مقایسه میانگین‌ها نشان داد که اعمال شوری آب آبیاری ۵ و ۱۰ دسی زیمنس بر متر موجب کاهش ۱۰ و ۳۱ درصدی مقدار نسبی آب برگ نسبت به شاهد شد. مقدار RWC گیاه شاخصی مناسب برای ارزیابی وضعیت آب گیاه و تعیین تحمل آن به تنش شوری است. با توجه به افزایش غلظت یون سدیم در برگ دانهال‌های پسته با افزایش شوری، کاهش آب در برگ دانهال ها با افزایش شوری را می‌توان به تجمع یون سدیم در برگ‌ها نسبت داد. از طرفی، کاربرد تنهای سنگ فسفات نیز فقط در سطح شوری ۵ دسی‌زیمنس بر متر بر مقدار این پارامتر تأثیر معنی‌دار داشت که باعث افزایش هشت درصدی آن نسبت همان سطح شوری گردید. تلقیح با

هر دو سویه PSB_1 و PSB_2 نیز موجب افزایش معنی‌دار مقدار نسبی آب برگ در تمام سطوح شوری آب شد. اگرچه، کارایی سویه PSB_2 در مقایسه با سویه PSB_1 در این تأثیر بیشتر بود. کاربرد همزمان سنگ فسفات و باکتری‌ها بیشترین تأثیر را در افزایش این پارامتر داشت. به‌طوری‌که کاربرد همزمان سنگ فسفات و باکتری PSB_2 مقدار نسبی آب برگ را در سطوح شوری صفر، ۵ و ۱۰ دسی‌زیمنس بر متر به‌ترتیب ۳۴، ۱۹ و ۵۲ درصد نسبت به همان سطح شوری افزایش داد (جدول ۴). یکی از بارزترین خصوصیات محرک رشدی باکتری‌های جنس *سودوموناس* تولید هورمون اکسین است. نتایج تحقیقات مختلف نشان داده است که اکسین موجب افزایش رشد ریشه‌های جانبی و در نتیجه، حجم و طول ریشه گیاه می‌شود. با توجه به افزایش وزن ریشه دانهال‌های پسته تلقیح شده با باکتری‌های *سودوموناس* تولیدکننده اکسین در این پژوهش، افزایش مقدار آب در برگ دانهال‌ها را می‌توان به افزایش ریشه‌های مویین و در نتیجه، دسترسی بهتر و بیشتر به آب به‌ویژه در شرایط شور نسبت داد. مایاک و همکاران (Mayak *et al.*, 2004) گزارش کردند که باکتری‌های محرک رشد گیاه می‌توانند با بهبود کارایی مصرف و مقدار آب گیاه موجب افزایش ریشه‌زایی و در نتیجه، رشد آن در شرایط تنش شوند. افزایش مقدار RWC در برگ نهال‌های پسته (Azarmi *et al.*, 2016) و توت فرنگی (Karlidag *et al.*, 2013) تلقیح شده با کاربرد باکتری‌های محرک رشد گیاه در شرایط شور نیز گزارش شده است.

براساس نتایج، مقدار شاخص پایداری غشای برگ با افزایش شوری آب آبیاری به ۵ و ۱۰ دسی‌زیمنس بر متر به‌ترتیب ۹ و ۳۲ درصد نسبت به شاهد کاهش نشان داد. یکی از مهم‌ترین اثرات شوری بر گیاه کاهش استحکام غشا و تخریب آن است. پراکسیداسیون لیپیدهای غشا نشان دهنده آسیب به غشای سلولی و در نتیجه، افزایش نفوذپذیری آن تحت تنش شوری است (Katsuhara *et al.*, 2005). از طرفی، کاربرد تنهای سنگ فسفات فقط در شرایط غیرشور موجب افزایش معنی‌دار این پارامتر گردید. هر چند تلقیح با هر دو سویه PSB_1 و PSB_2 موجب افزایش معنی‌دار شاخص پایداری غشا در تمام سطوح شوری نسبت به همان سطح شوری شد که از نظر آماری اختلافی بین دو سویه مشاهده نشد. به هر حال، کاربرد همزمان باکتری و سنگ فسفات تأثیر بیشتری در افزایش این شاخص داشت که نقش سویه PSB_1 در این افزایش بیشتر از سویه PSB_2 بود.

جدول ٤- اثر متقابل باکتری‌های حل‌کننده فسفات×سنگ فسفات بر مقدار قندهای محلول، پرولین، مقدار نسبی آب و پایداری غشای برگ دانهال‌های پسته در سطوح مختلف شوری آب آبیاری

Table 4- The interaction effect of rock phosphate ×PSB on the soluble sugars, proline, RWC and MSI content of pistachio seedlings leaf irrigated by different levels of water salinity

باکتری Bacteria	سنگ فسفات Rock phosphate	شوری Salinity (dS.m^{-1})			شوری Salinity (dS.m^{-1})		
		0	5	10	0	5	10
		قندهای محلول برگ Leaf soluble sugars (mg.g^{-1} FW)			پرولین برگ Leaf proline (mg.g^{-1} FW)		
PSB_0	RP_0	14.6 k	23.1 ij	31.5 efg	5.22 h	9.73 efg	17.5 d
	RP_1	17.5 jk	27.5 ghi	33.1 ef	5.89 h	11.6 ef	21.5 c
PSB_1	RP_0	18.9 jk	24.5 hi	28.9 fgh	7.36 gh	12.3 e	24.1 c
	RP_1	24.4 hi	35.0 de	47.2 b	10.0 efg	16.6 d	31.0 b
PSB_2	RP_0	26.3 hi	28.7 fgh	35.6 de	9.13 fg	16.5 d	34.0 a
	RP_1	33.0 ef	41.7 c	59.1 a	15.9 d	22.0 c	36.7 a
		مقدار نسبی آب برگ RWC (%)			شاخص پایداری غشا MSI (%)		
PSB_0	RP_0	68.0 ef	61.1 g	46.5 i	50.1 f	45.6 gh	33.9 k
	RP_1	71.0 de	66.2 f	47.9 i	63.3 c	49.2 fg	35.0 jk
PSB_1	RP_0	73.5 cd	68.0 ef	56.1 h	73.2 b	59.2 d	41.8 hi
	RP_1	77.3 c	71.5 de	60.3 gh	84.0 a	64.5 c	51.7 f
PSB_2	RP_0	84.2 b	73.4 cd	61.3 g	64.0 c	51.9 ef	38.0 ij
	RP_1	91.0 a	72.7 d	70.6 de	70.9 b	55.8 de	45.3 gh

برای هر صفت میانگین‌هایی که حداقل یک حرف مشترک دارند در سطح احتمال ۵ درصد بر اساس آزمون LSD اختلاف معنی‌داری ندارند.

Values followed by different letters have significant difference according to LSD test at $p<0.05$.

RWC: Relative Water Content, MSI: Membrane Stability Index

بیشترین مقدار شاخص پایداری غشا (۸۴ درصد) از کاربرد همزمان سنگ فسفات و سویه PSB_1 در شرایط غیرشور و کمترین مقدار آن از سطح شوری ۱۰ دسی‌زیمنس بر متر (۳۳/۹ درصد) به‌دست آمد (جدول ۴). باکتری‌های محرک رشد گیاه با افزایش قابلیت جذب عناصر غذایی و آب و همچنین تولید متابولیت‌های مختلف از جمله اکسین و آنزیم ACC– دآمیناز موجب بهبود وضعیت تغذیه‌ای گیاه شده و در نتیجه، با

کاهش غلظت گونه‌های فعال اکسیژن و رادیکال‌های آزاد، استحکام غشای سلولی را افزایش می‌دهند. گزارش شده است که مقدار MSI در گیاه توت فرنگی تلقیح شده با باکتری‌های محرک رشد گیاه تحت تنش شوری افزایش یافت (Karlding *et al.*, 2013).

غلظت فسفر اندام هوایی و ریشه

نتایج تجزیه واریانس داده‌ها بیانگر معنی‌دار بودن اثرات اصلی و متقابل باکتری‌های حل‌کننده فسفات، سنگ فسفات و شوری آب آبیاری بر غلظت فسفر اندام هوایی ($p<0.01$) و ریشه ($p<0.05$) دانهال‌های پسته بود (جدول ۲). با توجه به نتایج این آزمایش، اگرچه غلظت فسفر اندام هوایی فقط تحت تأثیر شوری ۱۰ دسی‌زیمنس بر متر قرار گرفت (کاهش ۴۲ درصدی)، امّا غلظت فسفر ریشه با اعمال هر دو سطح شوری آب ۵ و ۱۰ دسی‌زیمنس بر متر به‌ترتیب ۲۵ و ۵۳ درصد به‌طور معنی‌داری نسبت به شاهد کاهش یافت (جدول ۵). برخی پژوهشگران گزارش کرده‌اند که شوری خاک موجب کاهش جذب فسفر توسط گیاه می‌شود. به عقیده آن‌ها فسفر در شرایط شور با کاتیون‌های Ca^{2+}، Mg^{2+} و Zn^{2+} واکنش داده و به‌صورت غیرقابل دسترس برای گیاه در خاک تثبیت می‌شود (Cantrell & Lindermann, 2001). از سوی دیگر، کاهش مقدار فسفر قابل‌جذب در خاک‌های شور می‌تواند به اثر یون مشترک که باعث کاهش فعالیت یون فسفات و تشکیل کانی‌های فسفات کلسیم که غلظت فسفر خاک را در سطح پایینی نگه می‌دارد، مربوط باشد. کاهش جذب فسفر در برگ و ریشه نهال‌های پسته توسط اسکندری و مظفری (Eskandari & Mozaffari, 2014) گزارش شده است. در مقابل، کاربرد تنهای سنگ فسفات فقط بر مقدار فسفر ریشه در سطح شوری ۱۰ دسی‌زیمنس بر متر اثر معنی‌دار داشت که آن را ۳۳ درصد نسبت به همان سطح شوری افزایش داد. براساس نتایج به‌دست آمده، تلقیح با هر دو سویه PSB_1 و PSB_2 مقدار فسفر اندام هوایی و ریشه دانهال‌های پسته را در تمام سطوح شوری در مقایسه با همان سطح شوری به‌طور معنی‌داری افزایش داد. هرچند، مقدار این افزایش در اثر کاربرد سویه PSB_2 بیشتر از کاربرد سویه PSB_1 بود. تلقیح با سویه PSB_2 در سطوح شوری صفر، ۵ و ۱۰ دسی زیمنس بر متر غلظت فسفر اندام هوایی را به‌ترتیب ۹۱، ۸۷ و ۱۴۲ درصد و غلظت فسفر ریشه را به‌ترتیب ۵۲، ۷۸ و ۱۰۰ درصد در مقایسه با همان سطح شوری افزایش معنی‌دار داد. به هر حال، بیشترین غلظت فسفر اندام هوایی (۰/۴۱ درصد) از کاربرد هم‌زمان سنگ فسفات و PSB_2 در سطح شوری ۵ دسی‌زیمنس بر متر و بیشترین غلظت فسفر ریشه (۰/۳۵ درصد) از کاربرد هم‌زمان سنگ فسفات و PSB_2 در شرایط غیرشور به‌دست آمد (جدول ۵). مطالعات نشان داده است که بیش از ۹۰ درصد فسفر به‌ویژه در خاک‌های شور از دسترس گیاه خارج است. از طرفی، فراهمی فسفر آلی خاک برای گیاه بیشتر از فسفر معدنی با قابلیت انحلال پایین است. فسفر آلی می‌تواند با فعالیت جمعیت میکروبی خاک به‌صورت قابل‌جذب برای گیاه تبدیل شود. انحلال و فراهمی فسفر خاک توسط جمعیت میکروبی به نوع منبع فسفاتی (آلی یا معدنی)، نوع گیاه میزبان، جمعیت میکروبی، pH و ترکیب آنیون‌ها و کاتیون‌ها بستگی دارد (Niu *et al.*, 2010). پاتل و همکاران (Patel *et al.*, 2012) گزارش کردند که باکتری‌های جدا شده از خاک‌های شور، فسفر محلول خاک را افزایش دادند. بنابراین استفاده از باکتری های حل‌کننده فسفات، نقش مهمی در افزایش فسفر قابل جذب گیاه در خاک‌های شور دارد. براساس مطالعات آزمایشگاهی، باکتری‌های استفاده شده در این پژوهش توانایی انحلال تری کلسیم فسفات را به عنوان منبع نامحلول فسفر دارا بودند. از دیگر اثرات مهم ریزجانداران حل‌کننده‌ی فسفات از جمله *سودوموناس*‌ها در افزایش فراهمی فسفر قابل استفاده، افزایش ریشه‌زایی گیاه می‌باشد. باکتری‌های *سودوموناس* بر قابلیت ارتجاع ریشه مؤثر بوده و با افزایش انشعابات ریشه و تارهای کشنده، جذب عناصر غذایی را افزایش می‌دهند (De.freitas & Germida, 1990).

غلظت سدیم اندام هوایی و ریشه

نتایج تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد که اثرات اصلی باکتری و شوری آب آبیاری و همچنین اثرات متقابل سنگ فسفات و شوری آب آبیاری، و باکتری‌های حل‌کننده فسفات و شوری بر غلظت سدیم اندام هوایی دانهال‌های پسته معنی‌دار ($p<0.01$) شد (جدول ۲). نتایج مقایسه میانگین اثر متقابل سنگ فسفات و شوری آب آبیاری نشان داد که با افزایش شوری آب به ۵ و ۱۰ دسی‌زیمنس بر متر، غلظت سدیم اندام هوایی به‌ترتیب ۲/۱ و ۳/۵ برابر نسبت به شاهد افزایش یافت (شکل ۲-A).

جدول ۵- اثر متقابل باکتری‌های حل‌کننده فسفات × سنگ فسفات بر محتوای فسفر اندام هوایی و ریشه دانهال‌های پسته در سطوح مختلف شوری آب آبیاری

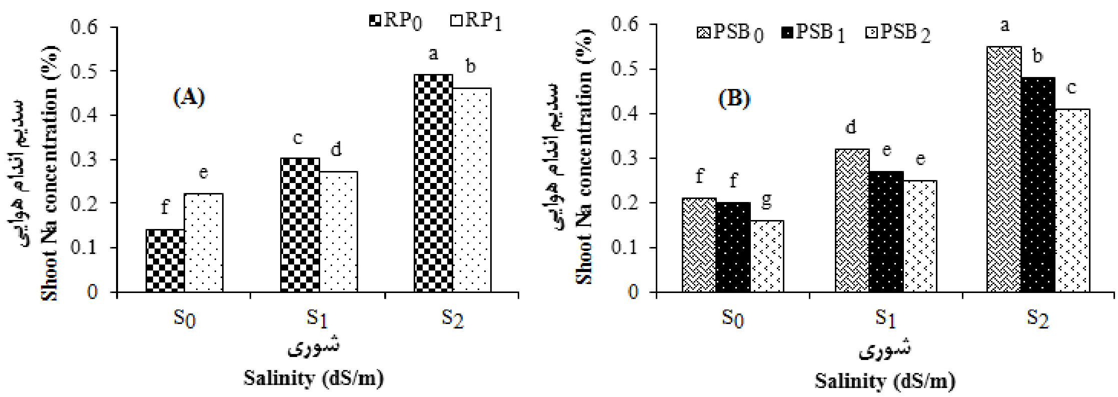
Table 5- The interaction effect of rock phosphate ×PSB on the shoot and root phosphorus content of pistachio seedlings irrigated by different levels of water salinity

باکتری Bacteria	سنگ فسفات Rock phosphate	شوری Salinity ($dS.m^{-1}$)			شوری Salinity ($dS.m^{-1}$)		
		0	5	10	0	5	10
		فسفر اندام هوایی Shoot P (%)			فسفر ریشه Root P (%)		
PSB_0	RP_0	0.12 gh	0.15 fg	0.07 i	0.19 fg	0.14 j	0.09 l
	RP_1	0.10 hi	0.17 f	0.10 hi	0.18 gh	0.15 ij	0.12 k
PSB_1	RP_0	0.16 f	0.20 e	0.11 h	0.22 e	0.17 gh	0.14 ij
	RP_1	0.25 cd	0.31 b	0.16 f	0.26 cd	0.20 ef	0.16 hi
PSB_2	RP_0	0.23 de	0.28 bc	0.17 f	0.29 b	0.25 d	0.18 gh
	RP_1	0.39 a	0.41 a	0.23 de	0.35 a	0.27 bc	0.22 e

برای هر صفت میانگین‌هایی که حداقل یک حرف مشترک دارند در سطح احتمال ۵ درصد بر اساس آزمون LSD اختلاف معنی‌داری ندارند.

Values followed by different letters have significant difference according to LSD test at $p<0.05$.

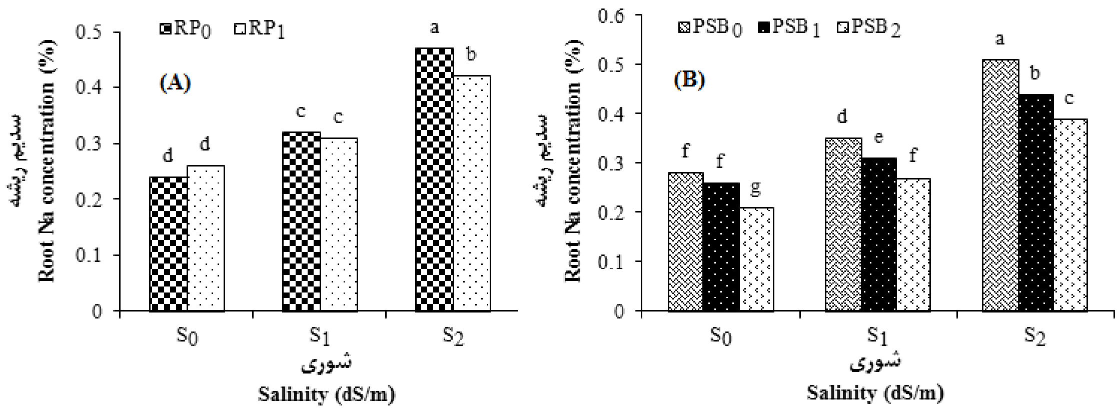
از مهم‌ترین اثرات تنش شوری بر گیاهان انباشت یون‌های سمی در اندام‌های مختلف آن‌ها به‌ویژه برگ‌ها می‌باشد. هرچند مقاومت گیاه پسته به تنش شوری نسبتاً بالاست، ولی با افزایش غلظت سدیم در محیط رشد ریشه، توانایی ریشه برای کنترل و تجمع سدیم در خود کاهش یافته و در نتیجه، انتقال آن به اندام هوایی افزایش می‌یابد. به‌طور کلی، به‌دلیل تجمع عناصر سمی مانند سدیم و کلر در اندام‌هوایی گیاهان، آسیب‌پذیری برگ‌ها نسبت به ریشه در برابر این عناصر بیشتر است. در مطالعه‌ای بر روی دو پایه پسته (سرخس و قزوینی) مشخص شد که با افزایش شوری، غلظت سدیم در اندام‌هوایی هر دو پایه به‌طور قابل‌ملاحظه‌ای افزایش یافت، هرچند غلظت سدیم در پایه سرخس بیشتر از پایه قزوینی بود (Saadatmand *et al.*, 2007). براساس مطالعات بهزادی راد و همکاران (Behzadi Rad *et al.*, 2021)، شوری موجب افزایش غلظت سدیم در اندام هوایی و ریشه سه رقم نهال پسته (قزوینی، قرمز پسته و موتیکا) مورد بررسی گردید، هرچند تجمع این عنصر در اندام‌هوایی هر سه رقم بیشتر از ریشه بود. همچنین براساس نتایج آن‌ها، تجمع سدیم در گونه حساس به شوری (موتیکا) بیشتر از گونه‌های مقاوم بود. از طرفی، کاربرد سنگ فسفات در شرایط غیرشور موجب افزایش و در شرایط شور موجب کاهش سدیم اندام هوایی نسبت به همان سطح شوری شد (شکل ۲-A). همچنین با توجه به نتایج برهم‌کنش باکتری‌های حل‌کننده فسفات و شوری آب، تلقیح با هر دو سویه PSB_1 و PSB_2 موجب کاهش غلظت سدیم اندام هوایی در شرایط شور نسبت به همان سطح شوری شد. هرچند، کارایی سویه PSB_2 در کاهش این پارامتر بیشتر از سویه PSB_1 بود. تلقیح با باکتری PSB_2 در سطوح شوری صفر، ۵ و ۱۰ دسی‌زیمنس بر متر، مقدار سدیم اندام هوایی را به‌ترتیب ۲۳، ۲۱ و ۲۵ درصد نسبت به همان سطح شوری کاهش داد (شکل ۲-B).



شکل ۲- برهم‌کنش سنگ فسفات × شوری آب آبیاری (A) و باکتری‌های حل‌کننده فسفات × شوری آب آبیاری (B) بر محتوای سدیم اندام هوایی دانهال‌های پسته

Figure 2- The interaction effects of rock phosphate ×salinity (A), and PSB ×salinity (B) on the shoot Na content of pistachio seedlings (LSD, *p≤0.05*)

غلظت سدیم ریشه تحت تأثیر معنی‌دار ($p<0.01$) اثرات اصلی باکتری‌های حل‌کننده فسفات، سنگ فسفات و شوری آب آبیاری و همچنین اثرات متقابل سنگ فسفات و شوری آب آبیاری، و باکتری‌های حل‌کننده فسفات و شوری آب آبیاری قرار گرفت (جدول ۲). براساس نتایج برهم‌کنش سنگ فسفات و شوری آب، کاربرد سنگ فسفات فقط در سطح شوری ۱۰ دسی‌زیمنس بر متر بر مقدار سدیم ریشه مؤثر بود که موجب کاهش ۱۱ درصدی این پارامتر نسبت به همان سطح شوری شد (شکل ۳-A). تلقیح با باکتری‌ها نیز به‌ویژه در شرایط شور موجب کاهش سدیم ریشه شد. تلقیح با سویه‌های PSB_1 و PSB_2 غلظت سدیم ریشه را در سطح شوری ۵ دسی‌زیمنس بر متر به‌ترتیب ۱۰ و ۲۳ درصد و در سطح شوری ۱۰ دسی‌زیمنس بر متر به‌ترتیب ۱۴ و ۲۴ درصد در مقایسه با همان سطح شوری کاهش داد (شکل ۳-B). باکتری‌های محرک رشد گیاه می‌توانند با تولید اگزوپلی ساکاریدها با کاتیون‌هایی نظیر سدیم پیوند برقرار کرده و فراهمی آن را برای گیاه کاهش دهند. از طرفی، کاهش جذب سدیم در گیاهان تلقیح شده با باکتری‌ها می‌تواند به کاهش جریان انبوه (آپوپلاستی) سدیم مربوط باشد (Ashraf *et al.*, 2004).



شکل ۳- برهم‌کنش سنگ فسفات × شوری آب آبیاری (A) و باکتری‌های حل‌کننده فسفات × شوری آب آبیاری (B) بر غلظت سدیم ریشه دانهال‌های پسته

Figure 3- The interaction effects of rock phosphate ×salinity (A), and PSB ×salinity (B) on the root Na content of pistachio seedlings (LSD, $p\leq 0.05$)

نتیجه‌گیری

اگرچه درختان پسته (به‌ویژه رقم بادامی) مقاومت نسبتاً بالایی به شوری خاک و آب دارند، ولی حد تحمل نهال‌های پسته به تنش شوری کمتر است. با توجه به نتایج این پژوهش، علائم شوری در سطح شوری آب ۱۰ دسی‌زیمنس بر متر در برگ‌های دانهال‌ها نمایان بود که موجب خشکیدگی برگ‌های پایین و سوختگی حاشیه و نوک برگ‌های جوان گردید. بنابراین، این نکته در زمان کاشت نهال‌های پسته در اراضی با خاک و آب شور (به‌ویژه در کاشت مستقیم بذر در خاک باغات) می‌بایست مورد توجه قرار گیرد. از طرفی، کاربرد سنگ فسفات همراه با تلقیح با باکتری‌های حل‌کننده فسفات موجب افزایش رشد، تجمع پرولین و قندهای محلول، غلظت کلروفیل و کاروتنوئیدها، مقدار آب نسبی و پایداری غشا و غلظت فسفر دانهال‌های پسته به‌ویژه در شرایط شور شد. باکتری‌های مورد استفاده در این پژوهش توانایی تولید ترکیبات محرک رشدی و مقاومت به تنش شوری در شرایط آزمایشگاهی را دارا بودند. بهبود رشد و افزایش مقاومت در برابر تنش شوری در دانهال‌های تلقیح شده با باکتری‌ها را می‌توان به تولید هورمون ایندول استیک اسید، اسیدهای آلی و پروتون و آنزیم ACC-دآمیناز توسط این باکتری‌ها نسبت داد. ایندول استیک اسید و آنزیم ACC-دآمیناز ترشح شده توسط باکتری‌ها موجب تحریک ریشه‌زایی و افزایش رشد ریشه می‌گردد. از طرفی، تولید اسیدهای آلی و پروتون باعث کاهش اسیدیته محیط و افزایش فراهمی عناصری مانند فسفر به‌ویژه از سنگ فسفات می‌شود. بنابراین، افزایش رشد ریشه و فراهمی عناصر غذایی در محیط ریشه دانهال‌های تلقیح شده با باکتری‌ها، مقدار جذب آب و عناصر غذایی در دانهال‌ها را افزایش داده و موجب بهبود رشد و مقاومت آن‌ها در شرایط تنش می‌گردد. افزایش وزن خشک اندام هوایی و ریشه دانهال‌های تیمار شده با باکتری‌ها و سنگ فسفات در این پژوهش تأییدکننده موارد فوق است. از طرفی، کاهش آثار تنش شوری نظیر خشک شدن برگ‌ها و سوختگی حاشیه برگ‌ها در دانهال‌های تیمار شده با باکتری‌ها و سنگ فسفات نیز به‌صورت ظاهری مشاهده شد. بنابراین، استفاده از باکتری‌های حل‌کننده فسفات می‌تواند به رشد و استقرار دانهال‌های پسته در شرایط تنش شوری و افزایش کارایی سنگ فسفات و تأمین فسفر مورد نیاز دانهال‌ها کمک کند.

References

1- Akhkha, A., Boutra, T., & Alhejely, A. (2011). The rates of photosynthesis chlorophyll content, dark respiration, proline and abscicic acid (ABA) in wheat (*Triticum durum*) under water deficit conditions. *International Journal of Agricultural and Biology, 13*, 215-221.
2- Alori, E.T., Glick, B.R. & Babalola, O.O. (2017). Microbial phosphorus solubilization and its potential for use in sustainable agriculture. *Frontiers in Microbiology, 8*, 971. https://doi.org/10.3389/fmicb.2017.00971
3- Ashraf, M., & Harris, P.J.C. (2013). Photosynthesis under stressful environments: An overview. *Photosynthetica, 51*, 163-190. https://doi.org/10.1007/s11099-013-0021-6
4- Ashraf, M., Hasnain, S., Berge, O., & Mahmood, T. (2004). Inoculating wheat seedlings with exopolysaccharide-producing bacteria restricts sodium uptake and stimulates plant growth under salt stress. *Biology and Fertility of Soils*, *40*, 157-162. https://doi.org/10.1007/s00374-004-0766-y
5- Ayeni, L.S., Adeleye, E.O., & Adejumo, J.O. (2012). Comparative effect of organic, organomineral and mineral fertilizers on soil properties, nutrient uptake, growth and yield of maize (*Zea mays*). *International Research Journal of Agricultural Science and Soil Science*, *2*(11), 493-497. https://doi.org/10.13140/RG.2.2.15371.18721
6- Azarmi, F., Mozafari, V., Abbaszadeh-Dahaji, P., & Hamidpour, M. (2015). Isolation and evaluation of plant growth promoting indices of *Pseudomonas fluorescens* isolated from pistachio rhizosphere. *Journal of Soil Biology*, *2*(2), 173-186. https://doi.org/10.22092/sbj.2015.100867
7- Azarmi, F., Mozafari, V., Abbaszadeh-Dahaji, P., & Hamidpour, M. (2016). Biochemical, physiological and antioxidant enzymatic activity responses of pistachio seedlings treated with plant growth promoting rhizobacteria and Zn to salinity stress. *Acta Physiologiae Plantarum*, *38*, 21. https://doi.org/10.1007/s11738-015-2032-3
8- Behzadi Rad, P., Roozban, M.R., Karimi, S., Ghahremani, R., & Vahdati, K. (2021). Osmolyte accumulation and sodium compartmentation key role in salinity tolerance of pistachios rootstocks. *Agriculture, 11*, 708. https://doi.org/10.3390/agriculture11080708
9- Cantrell, I.C., & Linderman, R.G. (2001). Pre-inoculation of lettuce and onion with VA mycorrhizal fungi reduces deleterious effects of soil salinity. *Plant and Soil, 233*, 269-281. https://doi.org/10.1023/A:1010564013601
10- Chapman, H.D., & Pratt, P.F. (1961). Methods of analysis for soils, plants and waters. University of California, Riverside.
11- De-Freitas, J.R., & Germida, J.J. (1990). A root tissue culture system to study winter wheat-rhizobacteria interactions. *Applied Microbiology and Biotechnology, 33*, 589-595. https://doi.org/10.1007/BF00172557
12- Demir, S. (2004. Influence of arbuscular mycorrhiza on some physiological growth parameters of pepper. *Turkish Journal of Biology, 28*, 85-90.
13- Egert, M., & Tevini, M. (2002). Influence of drought on some physiological parameters symptomatic for oxidative stress in leaves of chives (*Allium schoenoprasum*). *Environmental and Experimental Botany*, *48*, 43-49. https://doi.org/10.1016/S0098-8472(02)00008-4
14- Elhaissoufi, W., Khourchi, S., Ibnyasser, A., Ghoulam, C., Rchiad, Z., Zeroual, Y., Lyamlouli, K., & Bargaz, A. (2020). Phosphate solubilizing rhizobacteria could have a stronger influence on wheat root traits and above ground physiology than rhizosphere P solubilization. *Frontiers in Plant Science*, *11*, 979. https://doi.org/10.3389/fpls.2020.00979
15- Eskandari, S., & Mozaffari, V. (2014). Interactive effect of soil salinity and copper application on growth and chemical composition of pistachio seedlings (cv. Badami). *Communications in Soil Science and Plant Analysis*, *45*, 688-702. https://doi.org/10.1080/00103624.2013.874022
16- Fageria, N.K., Filho, M.P., Barbosa Moreira, A., & Guimarães, C.M. (2009). Foliar fertilization of crop plants. *Journal of Plant Nutrition, 32*(6), 1044-1064. https://doi.org/10.1080/01904160902872826
17- FAOSTAT. (2020). Food and agriculture organization of the United Nations. Retrieved from FAOSTAT database. http://ww1.faostat.org/ Accessed on 22 June 2020.
18- Ferguson, L., Poss, J.A., Grattan, S.R., Grieve, G.M., Wang, D., Wilson, C., Donovan, T.J. & Chao, C.T. (2002). Pistachio rootstocks influence scion growth and ion relations under salinity and boron stress. *Journal of the American Society for Horticultural Science*, *127*, 194-199. https://doi.org/10.21273/JASHS.127.2.194
19- Glick, B.R. (2004). Bacterial ACC deaminase and the alleviation of plant stress. *Advances in Applied Microbiology*, *56*, 291-312. https://doi.org/10.1016/S0065-2164(04)56009-4
20- Gonzalez, L., & Gonzalez-Vilar, M. (2003). Determination of Relative Water Content. In: M.J. Reigosa (Ed.) Handbook of plantecophysiology techniques. Dordrecht: Kluwer Academic, p. 207-212
21- Grattan, S.R., & Grieve, C.M. (1999). Salinity-mineral nutrient relations in horticultural crops. *Scientia Horticulture, 78*, 127 157. https://doi.org/10.1016/S0304-4238(98)00192-7
22- Iqbal, M., & Ashraf, M. (2013). Alleviation of salinity-induced perturbations in ionic and hormonal concentrations in spring wheat through seed preconditioning in synthetic auxins. *Acta Physiologiae Plantarum*, *35*, 1093-1112. https://doi.org/10.1007/s11738-012-1147-z

23-Irigoyen, J.J., Emerich, D.W., & Sanchez-Diaz, M. (1992). Water stress induced changes in concentrations of proline and total soluble sugars in nodulated alfalfa (*Medicago sativa*) plants. *Physiologia Plantarum, 84*, 55-60. https://doi.org/10.1111/j.1399-3054.1992.tb08764.x

24-Jilani, G., Akram, A., Ali, R.M., Hafeez, F.Y., Shamsi, I.H., Chaudhry, A.N. & Chaudhry, A.G. (2007). Enhancing crop growth, nutrients availability, economics and beneficial rhizosphere microflora through organic and biofertilizers. *Annals of Microbiolgy, 57*, 177-183. https://doi.org/10.1007/BF03175204

25-Kang, J., Amoozegar, A., Hesterberg, D., & Osmond, D.L. (2011). Phosphorus leaching in a sandy soil as affected by organic and incomposted cattle manure. *Geoderma, 161*, 194-201. https://doi.org/10.1016/j.geoderma.2010.12.019

26-Karimi, S., Rahemi, M., Maftoun, M., Eshghi, S., & Tavallali, V. (2009). Effect of long–term salinity on growth and performance of two pistachio (*Pistacia vera* L.) rootstocks. *Australian Journal of Crop Science, 3*, 1630-1639.

27-Karlidag, H., Yildirim, E., Turan, M., Pehluvan, M., & Donmez, F. (2013). Plant growth-promoting rhizobacteria mitigate deleterious effects of salt stress on strawberry plants (*Fragaria× ananassa*). *HortScience, 48*(5), 563-567. https://doi.org/10.21273/HORTSCI.48.5.563

28-Katsuhara, M., Otsuka, T. & Ezaki, B. (2005). Salt stress-induced lipid peroxidation is reduced by glutathione S-transferase, but this reduction of lipid peroxides is not enough for a recovery of root growth in *Arabidopsis*. *Plant Science, 169*, 369-373. https://doi.org/10.1016/j.plantsci.2005.03.030

29-Khan, M.S., Zaidi, A., & Ahmad, E. (2014). Mechanism of phosphate solubilization and physiological functions of phosphate-solubilizing microorganisms, Phosphate Solubilizing Microorganisms. Springer, pp. 31-62.

30-Khan, MA., Hamayun, M., Asaf, S., Khan, M., Yun, B.W., Kang, S.M., & Lee, I.J. (2021). Rhizospheric *Bacillus spp.* rescues plant growth under salinity stress via regulating gene expression, endogenous hormones, and antioxidant system of *Oryza sativa* L. *Frontiers in Plant Science, 12*, 665590. https://doi.org/10.3389/fpls.2021.665590

31-Lichtenthaler, H.K., & Wellburn, A.R. (1983). Determinations of total carotenoids and chlorophylls a and b of leaf extracts in different solvents. *Biochemical Society Transactions, 11*, 591-592. https://doi.org/10.1042/bst0110591

32-Malhotra, H., Vandana, S., Harma, S., & Pandey, R. (2018). Phosphorus nutrition: Plant growth in response to deficiency and excess" in Plant Nutrients and Abiotic Stress Tolerance. M. Hasanuzzaman M. Fujita H. Oku K. Nahar and B. Hawrylak-Nowak (Eds) (Singapore: Springer Singapore), 171-190.

33-Mane, A.V., Deshpande, T.V., Wagh, V.B., Karadge, B.A., & Samant, J.S. (2011). A critical review on physiological changes associated with reference to salinity. *International Journal of Environmental Sciences*, 1192-1216.

34-Marathe, R., Phatake, Y., Shaikh, A., Shinde, B., & Gajbhiye, M. (2017). Effect of IAA produced by *Pseudomonas aeruginosa* 6a (bc4) on seed germination and plant growth of *Glycin max*. *Journal Experimental Biology and Agriculture Sciences, 5*, 351-358. https://doi.org/10.18006/2017.5(3).351.358

35-Mayak, S., Tirosh, T., & Glick, B.R. (2004). Plant growth-promoting bacteria confer resistance in tomato plants to salt stress. *Plant physiology and Biochemistry, 42*(6), 565-572. https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2004.05.009

36-Meloni, D.A., Oliva, M.A., Ruiz, H.A. & Martinez, C.A. (2001). Contribution of proline and inorganic solutes to osmotic adjustment in cotton under salt stress. *Journal of Plant Nutrition, 24*, 599- 668. https://doi.org/10.1081/PLN-100104983

37-Mishra, M., Kumar, U., Mishra, P.K., & Prakash, P. (2010). Efficiency of plant growth promoting rhizobacteria for the enhancement of *Cicer arietinum* L. growth and germination under salinity. *Advances in Biological Research, 4*, 92-96.

38-Mousavi, A., Lessani, H., Babalar, M., Talaei, A.R., & Fallahi, E. (2008). Influence of salinity on chlorophyll, leaf water potential, total soluble sugars, and mineral nutrients in two young olive cultivars. *Journal of Plant Nutrition, 31*, 1906-1916. https://doi.org/10.1080/01904160802402807

39-Munns, R., & Tester, M. (2008). Mechanisms of salinity tolerance. *Annual Review of Plant Biology, 59*, 651-681. https://doi.org/10.1146/annurev.arplant.59.032607.092911

40-Murakeozy, E.P., Nagy, Z., Duhaze, C., Bouchereau, A., & Tuba, Z. (2003). Seasonal changes in the levels of compatible osmolytes in three halophytic species of inland saline vegetation in Hungary. *Journal of Plant Physiology, 160*, 395-401. https://doi.org/10.1078/0176-1617-00790

41-Naeem, A., Akhtar, M. & Ahmad, W. (2013). Optimizing available phosphorus in calcareous soils fertilized with diammonium phosphate and phosphoric acid using Freundlich adsorption isotherm. *The Scientific World Journal 2013*, 680257. http://dx.doi.org/10.1155/2013/680257

42-Niu, S., Wu, M., Han, Y.I., Xia, J., Zhang, Z., Yang, H. & Wan, S. (2010). Nitrogen effects on net ecosystem carbon exchange in a temperate steppe. *Global Change Biology, 16*, 144-155. https://doi.org/10.1111/j.1365-2486.2009.01894.x

43-Paquin, R., & Lechasseur, P. (1979). Observations on measurement method of free proline in extracts from plants. *Canadian Journal of Botany, 57*, 1851-1854. https://doi.org/10.1139/b79-233

44-Parida, A.K., & Das, A.B. (2005). Salt tolerance and salinity effects on plants: A review. *Ecotoxicology Environmental Safety, 60*, 324-349. https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2004.06.010

45- Patel, D., Jha, C.K., Tank, N., & Saraf, M. (2012). Growth enhancement of chickpea in saline soils using plant growth-promoting rhizobacteria. *Journal of Plant Growth Regulation*, *31*, 53-62. https://doi.org/10.1007/s00344-011-9219-7

46- Patten, C.L., & Glick, B.R. (2002). Role of *Pseudomonas putida* indole acetic acid in development of the host plant root system. *Applied Environmental Microbiology*, *68*, 3795-3801. https://doi.org/10.1128/AEM.68.8.3795-3801.2002

47- Paul, D., & Nair, S. (2008). Stress adaptations in a plant growth promoting rhizobacterium (PGPR) with increasing salinity in the coastal agricultural soils. *Journal of Basic Microbiology, 48,* 1-7. https://doi.org/10.1002/jobm.200700365

48- Porra, R.J. (2002). The chequered history of the development and use of simultaneous equations for the accurate determination of chlorophylls a and b. *Photosynthesis Research, 73*, 149-156. https://doi.org/10.1007/1-4020-3324-9-56

49- Razaq, M., Zhang, P., Shen, H., & Salahuddin (2017). Influence of nitrogen and phosphorous on the growth and root morphology of *Acer mono*. *Plos One*, *12*(2), e0171321. https://doi.org/10.1371/journal

50- Saadatmand A.R., Banihashemi Z., Maftoun M. & Sepaskhah, A.R. (2007). Interactive effect of soil salinity and water stress on growth and chemical compositions of pistachio nut tree. *Journal of Plant Nutrition*, *30*, 2037-2050. https://doi.org/10.1080/01904160701700483

51- Sairam, R.K. (1994). Effect of moisture stress on physiological activities of two contrasting wheat genotypes. *Indian Journal of Experimental Biology*, *32*, 584-593.

52- Sarcheshmehpour, M., Besharati, H., & Savaghebi, G.R. (2015). Increasing the efficiency of rock phosphate by some indigenous microorganisms of pistachio orchards to improve growth and nutrition of pistachio seedlings under salt stress. *Iranian Journal of Soil Research*, *29*(3), 371-381. https://doi.org/10.22092/IJSR.2015.103511

53- Selvaraj, T., & Chellappan, P. (2006). Arbuscular mycorrhizae: A diverse personality. *Journal of Central European Agriculture, 7*, 349-358.

54- Shaharroona, B., Arshad, M., Zahir, Z.A., & Khalid, A. (2006). Performance of *Pseudomonas spp.* containing ACC-Deaminase for improving growth and yield of maize (*Zea mays* L.) in the presence of nitrogenous fertilizer. *Soil Biology and Biochemistry, 38*, 2971-2975. https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2006.03.024

55- Shahbazi, K., & Besharati, H. (2013). Overview of agricultural soil fertility status of Iran. *Journal of Land Management, 1*, 1-15. https://doi.org/10.22092/LMJ.2013.100072

56- Shahriaripour, R., Tajabadi Pour, A., & Mozaffari, V. (2011). Effects of salinity and soil phosphorus application on growth and chemical composition of pistachio seedlings. *Communications in Soil Science and Plant Analysis*, *42*, 144-158. https://doi.org/10.1080/00103624.2011.535065

57- Sziderics, A.H., Rasche, F., Trognitz, F., Wilhelm, E. & Sessitsch, A. (2007). Bacterial endophytes contribute to abiotic stress adaptation in pepper plants (*Capsicum annuum* L.). *Canadian Journal of Microbiology, 53*, 1195-1202. https://doi.org/10.1139/W07-082

58- Tavallali, V., Rahemi, M., & Kholdebarin, B. (2009). Ameliorative effect of zinc on pistachio (*Pistacia vera* L.) growth under salt-affected soil condition. *Research Journal of Environmental Science*, *3*, 656-666. https://doi.org/10.3923/rjes.2009.656.666

59- Vives-Peris, V., Gomez-Cadenas, A., & Perez-Clemente, R.M. (2018). Salt stress alleviation in citrus plants by plant growth-promoting rhizobacteria *Pseudomonas putida* and *Novosphingobium* sp. *Plant Cell Reports*, *37*, 1557-1569. https://doi.org/10.1007/s00299-018-2328-z

60- Zeinali Bafghi, M., Gholamnezhad, J., Esmailzadeh-Hosseini, S.A., Shirmardi, M., & Jafari, A. (2020). Influence of growth promoting bacteria on growth and physiological traits of pistachio in saline soils. *Horticultural Plants Nutrition*, *2*(2), 107-129. (In Persian with English abstract). https://doi.org/10.22070/HPN.2020.4548.1030